

УДК 618.33/.36:616-092:611-018(591.8)

DOI: 10.36604/1998-5029-2021-81-105-114

ГИСТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МОРФОТИПЫ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ КРЫС НА ЭТАПАХ РАННЕГО И ПОЗДНЕГО ФЕТОГЕНЕЗА

Е.Н.Гордиенко, С.С.Целуйко

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95

РЕЗЮМЕ. Цель. Морфологический анализ развертывания гистогенетической информации легочной паренхимы на этапах позднего эмбриогенеза и фетогенеза у лабораторных крыс в пределах нормы реакции с верификацией по морфометрическим критериям индивидуальных морфотипов. **Материалы и методы.** Выполнено сравнительное морфологическое исследование гистогенеза энтодермальных производных легких крыс на критических периодах внутриутробного развития – позднем эмбриогенезе (14 сутки гестации), и позднем фетогенезе (20 сутки гестации) с применением морфометрической идентификации плоскостных параметров и комплекса плоскостных форм-факторов эпителиальных структур легкого. Морфометрические исследования осуществлены в программе «Морфометр» на полутонких срезах легкого крыс. **Результаты.** Описаны две критических стадии гистогенеза энтодермальных зачатков легких плода – псевдожелезистая и каналикулярная. Обоснованы варианты дискордантности индивидуального развития в пределах нормы реакции. Легкие плода на псевдожелезистой стадии и каналикулярной обнаруживают достоверные колебания плоскостных величин легочной паренхимы, наличие у разных особей вариантов плоскостных показателей энтодермальных производных, обозначивших индивидуальные морфотипы развития легкого крыс. На псевдожелезистой стадии у плодов с I типом, названным «компактным», общая площадь трубчатой системы и суммарный периметр достоверно уступают ($p < 0,001$) этим же показателям легкого II морфотипа, обозначенного как «воздушный». Величины одного канальца (наружный периметр, его площадь, размеры X-проекции и Y-проекции, длина эпителиальных трубочек) при I типе, напротив, достоверно больше, чем при II ($p < 0,01$). Среди форм-факторов достоверные отличия имеют элонгация (FE), квадратичность (FQ) и эквивалентный радиус (FR) ($p < 0,01$), менее значимы компактность (FF) и округлость (FC) ($p < 0,05$). Дискордантность развития установлена по ряду достоверных значений и на этапе позднего фетогенеза: площадь канальца ($p < 0,01$), площадь эпителия преацинозного отдела ($p < 0,001$), величина наружного периметра канальца, длина и, в меньшей степени, ширина канальца ($p < 0,05$) достоверно превышают таковые показатели II типа. В связи с этим размеры X- и Y- проекций при I типе также увеличены ($p < 0,05$). **Заключение.** В результате морфологических исследований верифицировано развитие энтодермальных производных легочной паренхимы на псевдожелезистой стадии (14 сутки гестации) и каналикулярной стадии (20 сутки гестации) у плодов крыс; внедрены морфометрические критерии оценки гистогенеза энтодермальных единиц паренхимы на критических этапах развития; проведен сравнительный анализ морфометрических показателей разных особей в динамике гестации; объективизированы индивидуальные варианты двух морфотипов – «компактного-I» и «воздушного-II» в процессе гистогенеза легких плода.

Ключевые слова: легкие крыс, внутриутробное развитие, морфометрическая оценка, псевдожелезистая стадия, каналикулярная стадия.

HISTOGENETIC MORPHOTYPES OF RATS RESPIRATORY SYSTEM AT THE STAGES OF EARLY AND LATE FETOGENESIS

Контактная информация

Елена Николаевна Гордиенко, д-р мед. наук, профессор, кафедра гистологии и биологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Горького, 95. E-mail: gen-45@rambler.ru

Correspondence should be addressed to

Elena N. Gordienko, PhD, DSc (Med.), Professor, Department of Histology and Biology, Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: gen-45@rambler.ru

Для цитирования:

Гордиенко Е.Н., Целуйко С.С. Гистогенетические морфотипы органов дыхания крыс на этапах раннего и позднего фетогенеза // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2021. Вып.81. С.105–114. DOI: 10.36604/1998-5029-2021-81-105-114

For citation:

Gordienko E.N., Tseluyko S.S. Histogenetic morphotypes of rats respiratory system at the stages of early and late fetogenesis. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2021; (81):105–114 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2021-81-105-114

E.N.Gordienko, S.S.Tseluyko

Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

SUMMARY. Aim. Morphological analysis of the deployment of histogenetic information of pulmonary parenchyma at the stages of late embryogenesis and fetogenesis in laboratory rats within the limits of the norm of reaction with verification according to morphometric criteria of individual morphotypes. **Materials and methods.** Comparative morphological study of histogenesis of endodermal derivatives of the lungs of rats at critical periods of intrauterine development – late embryogenesis (day 14 of gestation), and late fetogenesis (day 20 of gestation) was performed using morphometric identification of plane parameters and a complex of plane form factors of epithelial structures of the lung. Morphometric studies were carried out in the Morphometer program on semi-thin sections of the rat lung. **Results.** Two critical stages of histogenesis of endodermal beginnings of fetal lungs are described – pseudoglandular and canalicular. The options of discordance of individual development within the response norm are justified. The lungs of the fetus at the pseudoglandular stage and the canalicular stage show significant fluctuations in the plane values of the pulmonary parenchyma, the presence in different individuals of variants of the plane values of endodermal derivatives, which indicated individual morphotypes of the development of the rat lung. At the pseudoglandular stage, in fetus with type I, called “compact”, the total area of the tubular system and the total perimeter are significantly inferior ($p < 0.001$) to the same indicators of the lung II morphotype, designated as “air”. The values of one tubule (the outer perimeter, its area, the dimensions of the X-projection and Y-projection, the length of the epithelial tubes) in type I, on the contrary, are significantly larger than in type II ($p < 0.01$). Among form factors, reliable differences have elongation (FE), squareness (FQ) and equivalent radius (FR) ($p < 0.01$), less significant compactness (FF) and roundness (FC) ($p < 0.05$). The discordance of development is established by a number of reliable values at the stage of late fetogenesis: the area of the tubule ($p < 0.01$), the area of the epithelium of the pre-acinar department ($p < 0.001$), the value of the outer perimeter of the tubule, the length and, to a lesser extent, the width of the tubule ($p < 0.05$) significantly exceed such type II indicators. In this regard, the dimensions of X- and Y-projections for type I are also increased ($p < 0.05$). **Conclusion.** As a result of morphological studies, the development of endodermal derivatives of pulmonary parenchyma at the pseudoglandular stage (day 14 of gestation) and the canalicular stage (day 20 of gestation) in rat fetus was verified; morphometric criteria for assessing the histogenesis of endodermal parenchyma units at critical stages of development have been introduced; comparative analysis of morphometric indices of different individuals in gestation dynamics; individual variants of two morphotypes are objectified – “compact-I” and “air-II” in the process of histogenesis of the fetal lungs.

Key words: rat lungs, intrauterine development, morphometric assessment, pseudoglandular stage, canalicular stage.

Пульмонология всегда была в числе приоритетных научных отраслей отечественной и мировой медицины. Однако начало третьего десятилетия XXI века, ассоциированное во всем мире с продолжающейся пандемией новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 [1], делает ее проблемы наряду с вирусологией, геномикой, цитогенетикой, генодиагностикой доминирующими [2]. Успехи в изучении дыхательной патологии в вариантах возрастной онтогенетики [3], включая неонатологию [4], в том числе врожденные пороки развития [5], респираторные заболевания у детей [6], неразрывно связаны с достижениями теоретической медицины [7]. Многочисленные свидетельства того, что вирус SARS-CoV-2 может серьезно поражать сосудистое русло, сердце, нервную систему, кишечник, почки, яички, не отменяют того, что легкие и воздухоносные пути остаются в центре внимания при респираторной инфекции [8]. В настоящее время фундаментальные направления в пульмонологии имеют гораздо более широкие методические возможности для изучения патогенеза, клинических особенностей. Классическая экспериментальная биология исторически оценивает объект в трех аспектах: генезис – морфология – функция. Современные исследования в области рентгеновской томографической визуализации зарекомендовали себя как бесценные экспериментальные средства для получения трехмерной (3D)

информации о внутренней структуре органа [9]. Геномные диагностические методы [10] в аспекте персонализированной медицины, предполагают изучение особенностей, касающихся конкретного индивидуума, пациента (особи) на определенных этапах жизненного цикла – онтогенеза.

Феномен индивидуального развития в пределах вида содержит в себе проявления универсальности и разнообразия, и, несмотря на многочисленные исследования и открытия, именно поэтому продолжает оставаться загадкой. Внутриутробное развитие млекопитающих есть результат последовательной реализации программы трех геномов зиготы, эффектов ее собственного ядра, активности гомеозисных генов, генов, ответственных за эмбриональную индукцию, детерминацию и дифференцировку клеток, управляющих процессами раннего антенатального морфогенеза, которые свойственны и человеку. Однако их реализация протекает при участии эпигеномных факторов развивающегося организма в системе «мать-плацента-плод», и внешней среды [11].

Цель исследования: не исключая важности изучения роли генома нового организма и эпигеномных факторов в реализации гистогенетических потенций легких, обосновать целесообразность морфологического анализа для объективизации особенностей разветвления гистогенетической информации

энтодермального зачатка на двух критических этапах позднего эмбриогенеза и фетогенеза в пределах нормы реакции у лабораторных животных. Задачами исследования явились: морфологический анализ энтодермальных производных легочной паренхимы на псевдожелезистой стадии (14 сутки гестации), и каналикулярной стадии (20 сутки гестации); внедрение морфометрических критериев оценки гистогенеза энтодермальных единиц паренхимы на двух этапах развития; сравнительный анализ морфометрических показателей разных особей в динамике гестации; объективизация индивидуальных вариантов с идентификацией двух морфотипов легких плода крысы.

В качестве объекта исследования выбраны лабораторные крысы, которые, будучи гомойотермными животными, имеют гемохориальный тип плаценты, гематотрофный характер питания зародыша и плода, единый принцип нейрогуморальной регуляции деятельности репродуктивного системно-комплекса, а также обладают высокой степенью приспособляемости к различным условиям среды обитания.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 97 лабораторных беспородных самках крыс. Возраст молодых половозрелых крыс, включенных в исследование, составил 3-4 месяца, вес в пределах 150-200 г. Условием объективизации результатов морфологических исследований плодного материала служило выделение для всех животных строго датированных критических периодов фетогенеза: а) кульминационные фазы эстрального цикла: проэструс, эструс с целью строго датированной беременности и срока внутриутробного развития; б) 14 день гестации – поздний эмбриогенез – с органогенезом легких на псевдожелезистой стадии; в) 20 день гестации – поздний фетогенез – каналикулярная стадия развития легких плода, подготовка к родовому стрессу. Объективизацией проэструса, раннего эструса, спаривания и датированной беременности служила цитодиагностика влагалищных мазков, окрашенных метиленовым синим. Все животные содержались в виварии в стандартных условиях питания, светового и температурного режима. Забор материала проводился в строгом соответствии с предъявляемыми к забору требованиями, с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» [12].

От 97 беременных самок взяты 97 концептов на сроках 14 (52 концепта) и 20 суток (45 концептов) гестации (беременности). Легкие подвергались гистологическому исследованию обзорному морфологическому исследованию на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином Бемера-эозином. Полутопкие срезы изготовлены на ультрамикротоме ЛКБ-NOVA с проводкой по методике J.J.Coalson,

V.T.Winteret et al. (1986) с последующей окраской препаратов метиленовым синим. В работе использован морфометрический анализ для идентификации морфологических критериев внутриутробного развития эпителиальных структур легких крыс, проведенный на полутонких срезах, взятых от 20 эмбрионов и 20 плодов. Канальцевые морфофункциональные единицы измерялись в 10 полях зрения при общем увеличении $\times 800$, $\times 1800$ раз. Морфометрические исследования выполнены в программе «Морфометр» [13] с использованием полуавтоматического программно-аппаратного комплекса анализа изображений, состоящего из телекамеры черно-белого изображения с компьютерным интерфейсом, светового микроскопа с рисовально-проекционным аппаратом PA-7, компьютерного манипулятора «мышь», специально оборудованного световым маркером, персональным компьютером со специально созданными программами для морфометрических вычислений и статистической обработки полученных значений. Плоскостные значения паренхимы легких (длина, ширина, периметр, максимальный и минимальный диаметры, площадь воздухоносных и респираторных отделов) даны в абсолютных единицах (мкм, мкм²). На их основе определялись размеры X-проекции (длина по горизонтальной оси) и Y-проекции (длина по вертикальной оси). Плоскостные форм-факторы (округлость – степень близости формы к окружности – FC, элонгацию – степень вытянутости формы – FE, компактность – степень сжатости формы – FF, квадратичность – степень близости формы к квадрату – FQ, эквивалентный радиус – FR) в количественных характеристиках (условные единицы) позволили дополнить объективизацию плоскостных морфотипов объектов. Все морфометрические показатели подверглись статистической обработке с анализом достоверности результата. При обработке полученных результатов использован общепринятый метод статистики с использованием компьютерной прикладной программы Statistica 6,0 и Microsoft Excel Professional.

Результаты исследования

Псевдожелезистая стадия. На 14 сутки раннего фетогенеза паренхима эмбрионального легкого напоминает железистый орган, представленный поперечными или косо-поперечными срезами узких трубочек, выстланных преимущественно однослойным низко призматическим эпителием, расположенным на базальной мембране. Эпителиальные структуры, подобные ацинусам со свободным просветом, являются производными энтодермального дивертикула. Микроокружением служит эмбриональная соединительная ткань, содержащая кровеносные сосуды с ядерными эритроцитами эмбриона (рис. 1-3). Сосуды сопровождают эпителиальные зачатки, обеспечивая интенсивную васкуляризацию, характерную для всех железистых органов.

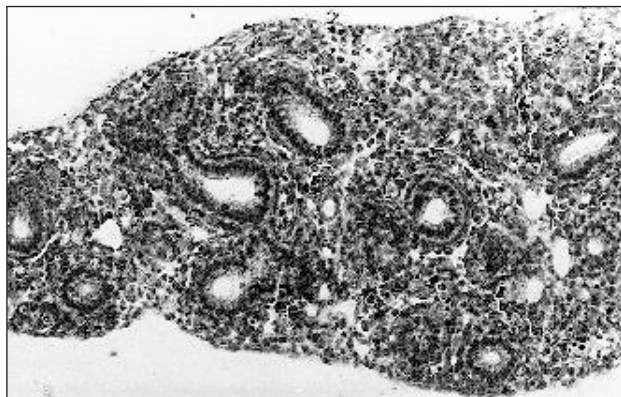


Рис. 1

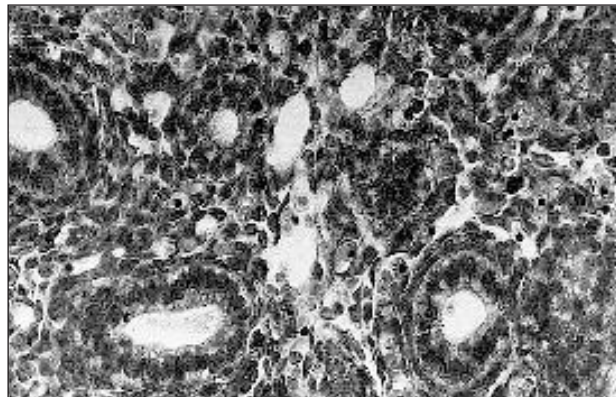


Рис. 2

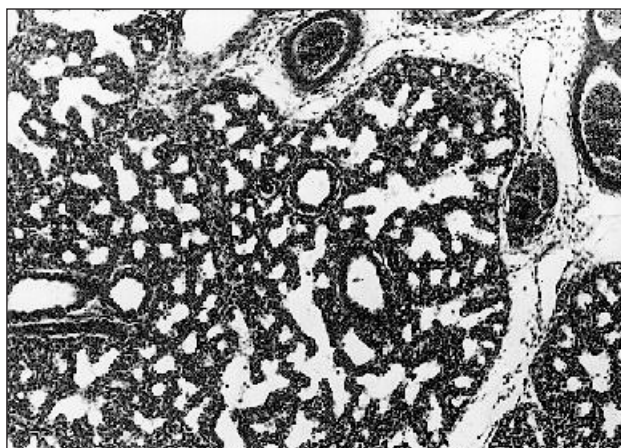


Рис. 3

Проведенные визуальный морфологический и морфометрический анализы паренхиматозных единиц в составе легких 14-дневных эмбрионов позволили на основе изученных показателей выделить два основных индивидуальных морфотипа развития органа, которые условно названы «компактный» (I) и «воздушный» (II). Они отражают совокупные варианты и пределы модификации объективных показателей формирующегося легкого у разных особей. Основными критериями типирования дискордантности развития явились: общая площадь трубочек, их периметр на единицу площади органа; площадь эпителия и просвета одной трубочки; ее наружный периметр, соответствующий базальной зоне эпителия; периметр просвета, длина, X-проекция, а также величины некоторых форм факторов – элонгация (FE), квадратичность (FQ), эквивалентный радиус (FR).

I морфотип. Общая площадь трубчатой системы, суммарный периметр достоверно меньше ($p < 0,001$) этих же показателей легкого II-го морфотипа (табл. 1). Однако величины одного канальца – наружный периметр, его площадь, размеры X-проекции и Y-проекции, длина эпителиальных трубочек достоверно больше ($p < 0,01$), в отличие от ширины. Среди форм-факторов достоверное отличие имеют элонгация (FE), квадратичность (FQ) и эквивалентный радиус (FR) ($p < 0,05$), менее значимые – компактность (FF) и округлость (FC). Дискриминируются со II вариантом также величины площади просвета канальца ($p < 0,001$), и, в

Рис. 1. Беременность 14 дней. Легкое эмбриона на этапе активного органогенеза бронхиального дерева. «Псевдожелезистая» стадия. Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение: 180.

Рис. 2. Беременность 14 дней. В составе мезенхимальной стромы присутствуют капилляры с ядерными эритроцитами. Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение: 320.

Рис. 3. Легкие плода 20 дней гестации. Дифференцировка респираторной части легких с трансформацией терминальных и респираторных бронхиол. Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение: 180.

меньшей степени, периметр, площадь и длина ($p < 0,05$), в связи с чем сближаются значения X- и Y-проекций. Значения форм-факторов коррелируют с таковыми наружных параметров канальца, приближаясь к величинам II морфотипа: FE, FF, FQ, FC. Максимальное отличие имеет FR, минимальное – FC. Указанные величины плоскостных показателей позволили назвать этот морфотип развивающегося легкого «компактным» (табл. 2).

II морфотип назван «воздушным» в связи с существенными модификациями плоскостных показателей эпителиального зачатка. Суммарная площадь трубочек за счет ветвей энтодермального дерева достоверно превышает таковую I морфотипа, равно как и периметр ($p < 0,001$) (табл. 2). При этом величины наружных параметров одной эпителиальной трубочки, включая площадь ($p < 0,01$) и длину при стабильной ширине ($p < 0,05$), напротив, существенно уменьшились. В связи со снижением абсолютных плоскостных величин уменьшились и значения FR, FE, FQ при стабильных размерах округлости (FC) и компактности (FF). Достоверно снижаются площадь просвета одного канальца легкого ($p < 0,001$), менее достоверно – его периметр, длина и ширина ($p < 0,05$), значения X- ($p < 0,01$), и, в меньшей степени, -Y-проекций. Но величины внутренних форм-факторов сохраняются близкими I морфотипу – FQ ($p > 0,05$) или уменьшаются незначительно – FR, FF.

Таблица 1

Морфометрические показатели эпителиальных структур паренхимы легкого 14 дней гестации (M±m)

Морфометрические показатели	14 дней гестации – I тип (n=10)	14 дней гестации – II тип (n=10)
Суммарная площадь трубочек	10674,72±375,4	14184,72±401,1***
Суммарный периметр	415,66±78,6	515,95±81,03**
Площадь 1 канальца	458,72±92,3	270,1±37,4**
Наружный периметр 1 канальца	89,3 89±9,71	42,7±1,3**
Площадь эпителия 1 канальца	387,9±73,1	223,0±17,8**
Длина	29,9±7,1	20,08±4,5*
Ширина	13,3±4,7	13,9±0,8
X-проекция	27,7±6,36	4,95±0,18***
Y-проекция	24,32±7,3	9,07±0,08***
Элонгация – FE	2,01±0,07	1,58±0,03*
Компактность – FF	1,59±0,03	1,61±0,09
Квадратичность – FQ	1,53±0,03	1,23±0,02*
Округлость – FC	0,82±0,01	0,84±0,02
Эквивалентный радиус – FR	8,78±0,9	8,18±0,6*

Примечание: здесь и далее в таблицах * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001 – уровни статистической значимости различий между морфометрическими показателями I и II морфотипов.

Таблица 2

Морфометрические показатели просвета эпителиальных структур паренхимы легкого 14 дней гестации (M±m)

Морфометрические показатели	14 дней гестации – I тип (n=10)	14 дней гестации – II тип (n=10)
Площадь просвета 1 канальца	70,79±9,34	47,08±7,1***
Периметр просвета	32,5±0,78	27,7±6,2*
Длина	11,07±0,7	9,71±0,1*
Ширина	5,76±0,4	4,95±0,18*
X-проекция	10,3±0,44	7,87±0,05**
Y-проекция	9,47±0,05	9,07±0,08
Элонгация – FE	1,93±0,05	1,87±0,03*
Компактность – FF	1,57±0,03	1,48±0,04*
Квадратичность – FQ	1,47±0,03	1,46±0,02
Округлость – FC	0,7±0,01	0,73±0,02
Эквивалентный радиус – FR	3,18±0,04	3,0±0,04*

Каналикулярный период развития легких плода. К 20 дню гестации фетальные легкие соответствуют так называемому каналикулярному периоду развития, переходящему в мешочковый (рис. 3) в пределах вариантов нормы. Установлены ветви проводящей порции трахеобронхиального дерева, включая терминальные бронхиолы. При возможном увеличении преацинозных путей новые ветви образовываться не могут за ис-

ключением терминальных, число которых может измениться и позже. Во время этой стадии дифференцировка воздухоносных путей сопровождается расширением просвета и постепенным увеличением рядности эпителия, что и придает фетальным легким вид каналов. При обильной васкуляризации в динамике органогенеза происходит относительное уменьшение представительства сосудов в строении по мере установ-

ления ими более тесного контакта с дыхательными путями. Выявлена дивергенция показателей преацинозного отдела по нескольким параметрам, позволяющая выделить 2 основных индивидуальных морфотипа развития энтодермального зачатка.

I морфотип. В сравнении со II морфотипом площадь канальца достоверно больше ($p < 0,01$), равно как и площадь эпителия преацинозного отдела, но, в большей степени ($p < 0,001$), величина наружного периметра

канальца достоверно превышает таковой показатель II типа. Преобладает длина, в меньшей степени – ширина канальца ($p < 0,05$) над II типом развития паренхимы. В связи с этим размеры X- и Y-проекций увеличены ($p < 0,05$). Выражена дискордантность среди форм-факторов у FR ($p < 0,01$), в меньшей степени – FE и FQ в пользу I варианта ($p < 0,05$). FC и FF не имеют существенных отличий (табл. 3).

Таблица 3

Морфометрические показатели эпителиальных структур паренхимы легкого 20 дней гестации (M±m)

Морфометрические показатели	14 дней гестации – I тип (n=10)	14 дней гестации – II тип (n=10)
Площадь 1 канальца	1565,0±218,13	837,62±139,1**
Площадь эпителия 1 канальца	1363,0±171,2	728,1±98,7***
Наружный периметр 1 канальца	208,6±24,66	156,74±22,2*
Длина	48,78±4,5	34,51±4,92*
Ширина	28,49±7,1	23,1±5,8
X-проекция	49,5±3,36	35,3±5,45*
Y-проекция	47,09±6,5	34,5±6,16*
Элонгация – FE	1,81±0,45	1,59±1,81*
Компактность – FF	2,14±0,08	2,29±0,19
Квадратичность – FQ	1,91±0,08	1,79±0,38*
Округлость – FC	0,46±0,07	0,42±0,06
Эквивалентный радиус – FR	15,01±1,1	10,45±1,8**

Таблица 4

Морфометрические показатели просвета эпителиальных структур паренхимы легкого 20 дней гестации (M±m)

Морфометрические показатели	14 дней гестации – I тип (n=10)	14 дней гестации – II тип (n=10)
Площадь просвета 1 канальца	202,0±46,0	109,5±41,2***
Периметр просвета	55,6±9,4	45,35±9,4*
Длина	18,7±4,2	14,7±3,4*
Ширина	10,08±4,3	9,38±2,7
X-проекция	17,9±4,56	14,3±2,6**
Y-проекция	16,4±4,35	12,8±3,1**
Элонгация – FE	2,05±0,7	1,72±0,75*
Компактность – FF	1,51±0,1	1,56±0,2
Квадратичность – FQ	1,5±0,36	1,29±0,44*
Округлость – FC	0,78±0,02	0,65±0,06*
Эквивалентный радиус – FR	6,9±0,92	4,65±0,83*

Это касается и увеличения площади просвета в I морфотипе ($p < 0,05$), периметра (апикальные зоны эпителиоцитов) ($p < 0,05$), длины ($p < 0,05$), в то время как ширина не имеет достоверных отличий ($p > 0,05$). Увеличены значения X- и Y-проекций ($p < 0,01$). В I морфотипе относительно «доминируют» следующие форм-факторы: FR, FQ, FE, FC ($p < 0,05$). Показатель, не меняющийся в составе морфотипов – компактность (FF). Плоскостные размеры, величины форм-факторов просвета эпителиальных зачатков легких плода демонстрируют тенденцию к увеличению в I морфотипе.

II морфотип. Площадь одного канальца достоверно уступает по величине I морфотипу (табл. 3), равно как и величины наружного периметра канальца, площадь эпителия преацинарного отдела ($p < 0,02$). Колебания в пользу I морфотипа имеет длина канальца ($p < 0,05$). Размеры X- и Y- проекции близки друг к другу в пределах морфотипа, но ниже таковых I морфотипа ($p < 0,01$). Среди форм-факторов заметно снижают свои показатели эквивалентный радиус и элонгация, в меньшей степени – квадратичность. Величины просвета: размер площади просвета ($p < 0,01$), его периметр (апикальные зоны эпителиоцитов) и длина – ниже показателей I морфотипа, в то время, как ширина не имеет достоверных отличий. Максимально снижены форм-факторы просвета в вариантах эквивалентного радиуса, элонгации и квадратичности (табл. 4).

Таким образом, установлена динамика ростовых модификаций плоскостных параметров и форм-факторов просвета преацинарных зачатков легких плода в пользу значений I морфотипа на этапах раннего и позднего фетогенеза.

Обсуждение результатов исследования

Целесообразность изучения гистогенеза дыхательной системы на биологических моделях не вызывает сомнений. Получению объективных данных способствует арсенал современных методов исследования, которыми располагают экспериментальная биология и медицина. В настоящее время предпочтение отдается изучению геномных механизмов [14], управляющих ветвящимся морфогенезом в динамике и единстве процессов эпителизации, альвеолизации, и ангиогенеза [15]. Тем не менее, наряду с современными электрофизиологическими методами (реопульмографический, ЭКГ) [16], не потеряли своего значения морфологические и морфометрические исследования [17]. Морфогенез лёгких является сложным многокомпонентным процессом, зависящим от точного геномного и эпигеномного контроля клеточной пролиферации, коммитирования, дифференцировки, межклеточных взаимодействий, апоптоза, продукции внеклеточного матрикса. Формирование бронхиальных транспортных и азрогематических трасс легких протекает поэтапно и обусловлено на всех сроках внутриутробного развития взаимодействием геномов энтодермального и мезенхимального зачатков в ходе ветвящегося

морфогенеза [18].

Разработанная на лабораторных крысах двухэтапная модель морфологической и морфометрической верификации гистогенеза легкого на строго датированных позднем эмбриональном (14 суток) и завершающем фетальном (20 суток) сроках, позволила объективизировать основные плоскостные параметры паренхимы органа, детализировать величины форм-факторов эпителиальных зачатков и установить пределы модификации показателей развития органа, чем существенно дополнены имеющиеся литературные данные. Первым объектом верификации служили легкие 14 суток гестации, соответствующие протяженной псевдожелезистой стадии. В это время формируется основа воздухоносных путей в тесном контакте с начальной дифференцировкой мезенхимального микроокружения. Вторым сроком морфологического исследования явились легкие плодов 20 дней гестации, соответствующие каналикулярной стадии с переходом в сакулярную. Это последовательные стадии между псевдожелезистой и альвеолярной в развитии паренхимы легких, определяющие готовность органа к формированию общей функциональной газообменной поверхности.

С помощью морфологического анализа описаны две стадии гистогенеза энтодермальных зачатков легких плода, а также обоснованы морфометрическими показателями варианты дискордантности их индивидуального развития. Легкие плода на 14-дневном сроке позднего эмбриогенеза и 20-дневном сроке позднего фетогенеза, согласно выбранным морфометрическим критериям, обнаруживают достоверные колебания плоскостных величин легочной паренхимы. В число критериев оценки включены: суммарная площадь одного канальца, его наружный периметр, внутренний периметр, площадь просвета, форм-факторы FE, FQ, FR. Для I морфотипа характерна более «компактная» организация, возникающая за счет трубочек, имеющих большие общую площадь и площадь просвета. Дискордантность I и II морфотипов канальцев подчеркивают линейные величины и значения форм-факторов (X-, Y-проекции, FE, FR, FQ) наружных и внутренних параметров паренхимы, доминирующие в I типе. Минорные значения характерны для тубулярных единиц II типа, формирующих относительно «воздушную» структуру легкого. Морфологический и морфометрический анализ паренхимы позволил сгруппировать варианты показателей в два основных индивидуальных морфотипа развития органа, которые условно названы «компактный» (I) и «воздушный» (II). Они отражают совокупные пределы модификации объективных показателей формирующегося легкого у разных особей животных. Основными критериями типирования дискордантности развития явились: общая площадь трубочек, их периметр на единицу площади органа, площадь эпителия и просвета одной трубочки, ее наружный периметр, соответствующий

базальной зоне эпителия, периметр просвета, длина, X-проекция, а также величины некоторых форм факторов – элонгация (FE), квадратичность (FQ), эквивалентный радиус (FR).

Морфогенез лёгких на всех этапах развития является интегративным процессом, который контролируется геномными и эпигеномными механизмами. Это не только гомеостатические гены зародыша и гены дифференцировки альвеолоцитов I и II типов эмбриона, но и эпигеномные многофункциональные молекулы, включая факторы роста фибробластов и другие трансформирующие ростовые факторы, интегрины, другие морфогенетические белки, различные транскрипционные факторы [19]. Однако результаты морфологического исследования с морфометрическим типированием индивидуальных характеристик гистогенеза легких на поздних эмбриональном и фетальном критических периодах развития у животных свидетельствуют о наличии вариантов развития основных паренхиматозных структур жизненно важного органа, как при участии собственных геномных факторов, так и системы «мать-плацента-плод» по принципу мультифакториального взаимодействия генов. Верифицированные варианты морфогенетических событий, установленные в пределах паренхимы легких на критических периодах развития, отражают индивидуальные морфотипы их реализации. Нам не удалось найти подобные работы, которые позволили бы идентифицировать морфотипы и оценить их как индивидуальные показатели гистогенеза паренхимы легких у здоровых животных на важных этапах гестации.

Полученные результаты позволяют предполагать разную степень готовности дыхательной системы к постнатальному существованию организмов, к встрече и взаимодействию с патогенной флорой и другими экстремальными факторами среды. С учетом важности современного изучения роли геномов нового организма в реализации гистогенетических потенций жизненно важных систем, развивающихся задолго до рождения, обосновывается актуальность разработки критериев оценки формирования особых индивидуальных вариантов структурного фенотипа респираторной системы, от которых будет зависеть специфический характер адаптации организма на этапах его постнатального раз-

вития. Именно поэтому экспериментальные обоснования в аспектах фундаментальных исследований, включая морфологические, по-прежнему остаются целесообразными для нужд персонифицированной медицины, которая нуждается в морфологической и морфометрической объективизации пределов «нормы реакции», индивидуальных вариантов изменений, возникающих в ходе реализации конкретных тканевых и органных гистогенетических потенций при взаимодействии с разнообразными, в том числе, биотическими, факторами среды.

Заключение

Морфологический анализ позволил реализовать задачи исследования: гистологически верифицировано развитие энтодермальных производных легочной паренхимы на псевдожелезистой стадии (14 сутки гестации), и каналикулярной стадии (20 сутки гестации) у плодов крыс; внедрены морфометрические критерии оценки гистогенеза энтодермальных единиц паренхимы на критических этапах развития; проведен сравнительный анализ морфометрических показателей разных особей в динамике гестации; объективизированы индивидуальные варианты двух морфотипов – «компактного-I» и «воздушного-II» в процессе гистогенеза легких плода. Морфометрическая оценка вариантов развития свидетельствует о наличии во внутриутробном периоде индивидуальных организменных возможностей особи при реализации гистогенетических потенций легкого. Объективизация морфотипов предполагает индивидуальные варианты готовности организма, активно реализующего комплекс важнейших геномных и эпигеномных механизмов развития, к встрече с факторами среды.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Жмеренецкий К.В., Сазонова Е.Н., Воронина Н.В., Томилка Г.С., Сенькевич О.А., Гороховский В.С., Дьяченко С.В., Кольцов И.П., Куцый М.Б. COVID-19: только научные факты // Дальневосточный медицинский журнал. 2020. №1. С.5–22. <https://doi.org/10.35177/1994-5191-2020-1-5-22>
2. Бобкова Н.В. Баланс двух ветвей РАС может препятствовать тяжелому течению COVID-19 // Биологические мембраны. 2021. Т.38, №1. С.3–19. <https://doi.org/10.31857/S0233475521010035>
3. Collins J.J.P., Tibboel D., de Kleer I.M., Reiss I.K.M., Rottier R.J. The Future of Bronchopulmonary Dysplasia: Emerging Pathophysiological Concepts and Potential New Avenues of Treatment // Front. Med. (Lausanne). 2017. Vol.4, Article number: 61. <https://doi.org/10.3389/fmed.2017.00061>
4. Di Bernardo J., Maiden M.M., Jiang G., Hershenson M.B., Kunisaki S.M. Paracrine regulation of fetal lung morphogenesis using human placenta-derived mesenchymal stromal cells // J. Surg. Res. 2014. Vol.190, Iss.1. P.255–263. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2014.04.013>

5. Сокольников В.П. Молекулярные основы некоторых пороков развития легких // Медицинский журнал. 2018. №1. С. 46–50. URL: <http://rep.bsmu.by/bitstream/handle/BSMU/18537/9..pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Фурман Е.Г., Репецкая М.Н., Корякина И.П. Поражение нижних дыхательных путей и легких при коронавирусной инфекции COVID-19 у детей и взрослых: сходства и отличия (обзор литературы) // Пермский медицинский журнал. 2020. Т.37, №2. С.5–14. <https://doi.org/10.17816/pmj3725-14>
7. Hummler S.C., Rong M., Chen S., Hehre D., Alapati D., Wu S. Targeting glycogensynthase kinase-3 β to prevent hyperoxia-induced lung injury in neonatal rats // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2013. Vol.48, №5. P.578–588. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2012-0383OC>
8. Хамчиев К.М., Исаева З.К., Сулейменова Ф.М., Сагимова Г.К., Адайбаев К.Т. Роль биологического моделирования болезней органов дыхания в условиях COVID-19: гистологическая картина здоровых и стресс-индуцированных легких // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2020. №7. С.50–56. <https://doi.org/10.17513/mjpf.13100>
9. Borisova E., Lovric G., Miettinen A., Fardin L., Bayat S., Larsson A., Stampanoni M., Schittny J.C., Schlepütz C.M. Micrometer-resolution X-ray tomographic full-volume reconstruction of an intact post-mortem juvenile rat lung // *Histochem. Cell Biol.* 2021. Vol.155. P.215–226. <https://doi.org/10.1007/s00418-020-01868-8>
10. Warburton D., Schwarz M., Tefft D., Flores-Delgado G., Anderson K.D., Cardoso W.V. The molecular basis of lung morphogenesis // *Mech. Dev.* 2000. Vol.92, Iss.1. P.55–81. [https://doi.org/10.1016/s0925-4773\(99\)00325-1](https://doi.org/10.1016/s0925-4773(99)00325-1)
11. Ржепецкая М.К. Генетические маркеры как показатель устойчивости человека к различным эколого-профессиональным факторам // *Известия Российской военно-медицинской академии.* 2017. Т.19, №4. С.6–13. <https://doi.org/10.17816/brmma12418>
12. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg. 18.III.1986 (ETS №123). Amended by Protocol (ETS №170) 02.12. 2005 and Treaty of Lisbon 01.12.2009. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b>
13. Ульянычев Н.В., Безрукова Т.В., Целуйко С.С. Автоматизированная система для научных исследований в физиологии и патологии дыхания. Благовещенск, 1988. 54 с.
14. Reardon S. Geneticists pan paper that claims to predict a persons fase from their DNA // *Nature.* 2017. Vol.549. P.139–140. <https://doi.org/10.1038/nature.2017.22580>
15. Schittny J.C. Development of the lung // *Cell Tissue Res.* 2017. Vol.367, №3. P.427–444. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2545-0>
16. Khamchiev K.M., Shandaulov A.Kh., Ibraeva S.S., Ostanin A.A., Zhiyengalieva A.K. Morphological and functional changes of lungs with the complex effect of immobilization and hypothermia // *International Journal of Management* 2020. Vol.11, Iss.5. P.1417–1422. <https://doi.org/10.34218/IJM.11.5.2020.134>
17. Гордиенко Е.Н., Целуйко С.С. Сравнительный морфометрический анализ легкого эмбриона при общем охлаждении // *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2015. №2. С.47–51.
18. Tang J.R., Michaelis K.A., Nozik-Grayck E., Seedorf G.J., Hartman-Filson M., Abman S.H., Wright C.J. The NF- κ B inhibitory proteins I κ B α and I κ B β mediate disparate responses to inflammation in fetal pulmonary endothelial cells // *J. Immunol.* 2013. Vol.190, №6. P.2913–2923. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202670>
19. Cremona T.P., Hartner A., Schittny J.C. The Development of Integrin Alpha-8 Deficient Lungs Shows Reduced and Altered Branching and a Correction of the Phenotype During Alveolarization // *Front. Physiol.* 2020. Vol.21, №11. Article number: 530635. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.530635>

REFERENCES

1. Zhmerenetsky K.V., Sazonova E.N., Voronina N.V., Tomilka G.S., Senkevich O.A., Gorokhovskiy V.S., Dyachenko S.V., Koltsov I.P., M.B. Kutsiy M.B. COVID-19: scientific facts only. *Far Eastern Medical Journal* 2020; (1):5–22 (in Russian). <https://doi.org/10.35177/1994-5191-2020-1-5-22>
2. Bobkova N.V. The balance between two branches of RAS can protect from severe COVID-19 course. *Biochem. (Mosc) Suppl. Ser. A Membr. Cell Biol.* 2021; 15(1):36–51. <https://doi.org/10.1134/S1990747821010037>
3. Collins J.J.P., Tibboel D., de Kleer I.M., Reiss I.K.M., Rottier R.J. The Future of Bronchopulmonary Dysplasia: Emerging Pathophysiological Concepts and Potential New Avenues of Treatment. *Front. Med. (Lausanne)* 2017; 4: 61. <https://doi.org/10.3389/fmed.2017.00061>
4. Di Bernardo J., Maiden M.M., Jiang G., Hershenson M.B., Kunisaki S.M. Paracrine regulation of fetal lung morphogenesis using human placenta-derived mesenchymal stromal cells. *J. Surg. Res.* 2014; 190(1):255–263. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2014.04.013>
5. Sokolnik V.P. Molecular Basis of several lung malformations. *Medtsinskiy zhurnal* 2018; (1):46–50 (in Russian). Available at: <http://rep.bsmu.by/bitstream/handle/BSMU/18537/9..pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Furman E.G., Repetskaya M.N., Koryukina I.P. Lower airways and lungs affection in coronavirus infection COVID-19 among children and adults: similarities and differences (review of literature). *Perm Medical Journal* 2020; 37(2):5–14

(in Russian). <https://doi.org/10.17816/pmj3725-14>

7. Hummler S.C., Rong M., Chen S., Hehre D., Alapati D., Wu S. Targeting glycogensynthase kinase-3 β to prevent hyperoxia-induced lung injury in neonatal rats. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2013; 48(5):578–588. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2012-0383OC>

8. Khamchiev K.M., Isaeva Z.K., Suleymenova F.M., Sagimova G.K., Adaybaev K.T. Role of biological modeling of respiratory diseases in COVID-19 conditions: histological picture of healthy and stress-induced lungs. *International Journal of Applied and Fundamental Research* 2020; (7):50–56 (in Russian). <https://doi.org/10.17513/mjpf.13100>

9. Borisova E., Lovric G., Miettinen A., Fardin L., Bayat S., Larsson A., Stampanoni M., Schittny J.C., Schlepütz C.M. Micrometer-resolution X-ray tomographic full-volume reconstruction of an intact post-mortem juvenile rat lung. *Histochem. Cell Biol.* 2021; 155:215–226. <https://doi.org/10.1007/s00418-020-01868-8>

10. Warburton D., Schwarz M., Tefft D., Flores-Delgado G., Anderson K.D., Cardoso W.V. The molecular basis of lung morphogenesis. *Mech. Dev.* 2000; 92(1):55–81. [https://doi.org/10.1016/s0925-4773\(99\)00325-1](https://doi.org/10.1016/s0925-4773(99)00325-1)

11. Rzhpetskaya M.K. Genetic markers as an indicator of human resilience to various ecological and professional factors. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy* 2017; 19(4):6–13 (in Russian). <https://doi.org/10.17816/brmma12418>

12. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg. 18.III.1986 (ETS №123). Amended by Protocol (ETS №170) 02.12. 2005 and Treaty of Lisbon 01.12.2009. Available at: <https://rm.coe.int/168007a67b>

13. Ulyanychev N.V., Bezrukova T.V., Tseluyko S.S. Automated system for scientific research in physiology and pathology of respiration. Blagoveshchensk; 1988 (in Russian)

14. Reardon S. Geneticists pan paper that claims to predict a persons fase from their DNA. *Nature* 2017; 549:139–140. <https://doi.org/10.1038/nature.2017.22580>

15. Schittny J.C. Development of the lung. *Cell Tissue Res.* 2017; 367(3):427–444. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2545-0>

16. Khamchiev K.M., Shandaulov A.Kh., Ibraeva S.S., Ostanin A.A., Zhiyengalieva A.K. Morphological and functional changes of lungs with the complex effect of immobilization and hypothermia. *International Journal of Management* 2020; 11(5):1417–1422. <https://doi.org/10.34218/IJM.11.5.2020.134>

17. Gordienko E.N., Tseluiko S.S. Comparative morphometric analysis of fetal lung at a total cooling. *Pacific Medical Journal* 2015; (2):47–51 (in Russian).

18. Tang J.R., Michaelis K.A., Nozik-Grayck E., Seedorf G.J., Hartman-Filson M., Abman S.H., Wright C.J. The NF- κ B inhibitory proteins I κ B α and I κ B β mediate disparate responses to inflammation in fetal pulmonary endothelial cells. *J. Immunol.* 2013; 190(6):2913–2923. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202670>

19. Cremona T.P., Hartner A., Schittny J.C. The Development of Integrin Alpha-8 Deficient Lungs Shows Reduced and Altered Branching and a Correction of the Phenotype During Alveolarization. *Front. Physiol.* 2020; 21(11):530635. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.530635>

Информация об авторах:

Елена Николаевна Гордиенко, д-р мед. наук, профессор, кафедра гистологии и биологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: gen-45@rambler.ru

Сергей Семенович Целуйко, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии и биологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; e-mail: agma.agma@yandex.ru

Author information:

Elena N. Gordienko, PhD, DSc (Med.), Professor, Department of Histology and Biology, Amur State Medical Academy; e-mail: gen-45@rambler.ru

Sergey S. Tseluyko, PhD, DSc (Med.), Professor, Head of Department of Histology and Biology, Amur State Medical Academy; e-mail: agma.agma@yandex.ru

Поступила 15.07.2021
Принята к печати 04.08.2021

Received July 15, 2021
Accepted August 04, 2021